

DETECÇÃO DE *Chlamydia trachomatis* EM MULHERES BRASILEIRAS POR PCR EM TEMPO REAL UTILIZANDO SYBR GREEN I

DETECTION OF *Chlamydia trachomatis* IN BRAZILIAN WOMEN BY REAL-TIME PCR USING SYBR GREEN I

DOI: 10.16891/2317-434X.v14.e1.a2026.id3051

Recebido em: 25.05.2025 | Aceito em: 24.03.2026

Ana Catarina Simonetti-Monteiro^a, Gleiciane Adrielli Souza Guinho^a, José Humberto de Lima Melo^b,
Micheline Oliveira Lobo Pereira da Costa^c, José Luiz de Lima Filho^b, Sérgio Crovella^b, Paulo Roberto
Eleutério de Souza^d

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita)^a

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)^b

Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP)^c

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)^d

*E-mail: catarinasimonetti@asces.edu.br

RESUMO

A *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) é considerada uma das principais causas de Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs), apresentando uma carga global elevada que conta com aproximadamente 100 milhões de novos casos por ano. Para sua detecção diferentes testes podem ser utilizados, com técnicas tradicionais e modernas, que apresentam diferentes níveis de sensibilidade, especificidade e aplicabilidade. Dessa forma, objetivamos propor uma metodologia para identificação e diagnóstico de *C. trachomatis* baseada na tecnologia da PCR em Tempo Real, utilizando SYBR® Green I como corante fluorescente. Para execução, amostras de DNA genômico, obtidas a partir de secreção vaginal de mulheres atendidas no Ambulatório Especializado da Mulher, em Recife-PE, foram extraídas, utilizando o protocolo do Wizard® Genomic DNA Purification Kit, conforme instruções do fabricante. Primers específicos foram utilizados na detecção de *C. trachomatis* para gerar um fragmento de 150 pb, usando a técnica da PCR em Tempo Real e o SYBR® Green I como corante fluorescente. A especificidade da reação foi confirmada pelo pico de fusão e validados por eletroforese em gel de agarose a 1%. Após a amplificação, foi possível determinar que o pico específico da *C. trachomatis* é de $77 \pm 0,5$ °C. A prevalência da infecção por *C. trachomatis*, para 98 amostras clínicas de secreção vaginal analisadas, foi de 14,3%. Portanto, o protocolo proposto mostrou alta especificidade, sendo uma metodologia rápida, econômica e confiável para a triagem de patógenos da família *Chlamydiaceae*.

Palavras-chave: Infecções por *Chlamydia*; Infecções Sexualmente Transmissíveis; Técnicas de Diagnóstico Molecular.

ABSTRACT

Chlamydia trachomatis (*C. trachomatis*) is considered one of the leading causes of sexually transmitted infections (STIs), with a significant global burden accounting for approximately 100 million new cases annually. For its detection, various tests can be employed, including traditional and modern techniques, which exhibit different levels of sensitivity, specificity, and applicability. Thus, this study aimed to propose a methodology for the identification and diagnosis of *C. trachomatis* based on real-time PCR technology, using SYBR® Green I as a fluorescent dye. For the procedure, genomic DNA samples — obtained from vaginal secretions of women treated at the Specialized Women's Outpatient Clinic in Recife, Pernambuco, Brazil — were extracted using the Wizard® Genomic DNA Purification Kit protocol, according to manufacturer's instructions. Specific primers were used to detect *C. trachomatis*, generating a 150 bp fragment through real-time PCR with SYBR® Green I as the fluorescent dye. The reaction's specificity was confirmed by the melting peak and validated by 1% agarose gel electrophoresis. After amplification, it was determined that the specific melting peak for *C. trachomatis* was 77 ± 0.5 °C. Among the 98 clinical vaginal secretion samples analyzed, the prevalence of *C. trachomatis* infection was 14.3%. Therefore, the proposed protocol demonstrated high specificity, proving to be a rapid, cost-effective, and reliable methodology for screening pathogens of the *Chlamydiaceae* family.

Keywords: *Chlamydia* Infections; Sexually Transmitted Diseases; Molecular Diagnostic Techniques.

INTRODUÇÃO

A *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) é uma bactéria que causa uma infecção de considerável relevância para a saúde pública mundial, sendo considerada uma das principais causas de Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs) e o principal agente de cegueira infecciosa (Sturd; Rucks, 2023). Apesar de estar entre as quatro ISTs curáveis mais comuns, junto à Tricomoníase, Gonorreia e Sífilis, a Clamídia continua apresentando uma carga global elevada, com cerca de 100 milhões de novos casos por ano (WHO, 2018; 2021; 2022).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que, em 2020, ocorreram 128,5 milhões de novas infecções por *C. trachomatis* na faixa etária de 15 a 49 anos, com uma prevalência geral de 4% entre as mulheres e 2,5% entre os homens (WHO, 2022). Reconhecida como um significativo problema de saúde pública, a Clamídia, assim como outras ISTs, foi incluída nas metas globais da OMS para o período de 2022–2030, que visam reduzir a carga dessas doenças por meio de estratégias eficazes de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento adequado (Rowley et al., 2019).

Economicamente, os custos médicos ao longo da vida para infecções por *C. trachomatis* foram estimados em cerca de \$46,00 para homens e \$262,00 para mulheres nos Estados Unidos. Nos homens, essas estimativas foram mais sensíveis aos fatores relacionados à aparição de sintomas e aos custos associados ao tratamento. Já nas mulheres, os gastos estavam fortemente associados à probabilidade de desenvolver e ao ônus do tratamento da Doença Inflamatória Pélvica (DIP), uma possível complicação da doença (Kumar et al., 2021).

Além da DIP, o patógeno em questão tem potencial para causar gravidez ectópica e infertilidade por fator tubário (Witkin et al., 2017). Caso esteja presente no trato gastrointestinal inferior, pode ainda provocar proctite e aumentar o risco de aquisição e transmissão do Vírus da Imunodeficiência Humana - HIV (Vaughan et al., 2015; Barbee et al., 2017; Workowski et al., 2021). Entretanto, em decorrência da sua natureza predominantemente assintomática, grande parte dos indivíduos infectados permanece sem diagnóstico, o que não apenas eleva o risco de complicações, mas também favorece a transmissão aos parceiros sexuais (Geisler et

al., 2022).

Dessa forma, a detecção e o gerenciamento precoce são decisivos para a redução de novos casos. Para isso, alguns testes podem ser utilizados no diagnóstico da infecção, com diferentes níveis de sensibilidade, especificidade e aplicabilidade. Entre os métodos tradicionais, destaca-se a cultura celular (de elevada especificidade, mas em desuso pela complexidade e alto custo), os testes de detecção de antígenos, como a Imunofluorescência Direta (DIF), que apresentam alta especificidade (98–99%) e sensibilidade moderada (80–90%), e os ensaios imunoenzimáticos (EIA/ELISA), também com sensibilidade moderada (65–75%) (Shetty et al., 2021).

Atualmente, porém, as técnicas moleculares, como a amplificação de ácidos nucleicos (NAAT, incluindo PCR e LCR), são o padrão ouro no diagnóstico do patógeno, com elevadas sensibilidade e especificidade. Já a hibridização de ácidos nucleicos é menos sensível, mas útil em laboratórios com demanda expressiva. O MIF Test (Microimmunofluorescence) foi considerado o “padrão ouro sorológico” mais sensível, todavia com aplicações clínicas limitadas pela complexidade da técnica e custo oneroso. O ELISA, mais acessível, pode gerar falso-positivos por reações cruzadas e não distingue infecções ativas de passadas, devido a persistência dos anticorpos após a cura. Portanto, os testes moleculares se destacam pela precisão e aplicabilidade (Shetty et al., 2021).

Nesse contexto, a Clamídia, enquanto IST prevalente e frequentemente assintomática, tem seu controle prejudicado por conta da carência de métodos diagnósticos que associam precisão e acessibilidade. Assim, visando proporcionar uma técnica específica e economicamente viável, este estudo propõe uma metodologia para diagnóstico de infecção por *C. trachomatis* baseado na técnica da PCR em Tempo Real (qPCR), utilizando SYBR Green I como corante fluorescente.

Esse tipo protocolo aplicado em mulheres brasileiras do estado de Pernambuco (Brasil) não foi descrito, previamente, na literatura. A contribuição do presente estudo reside na adaptação e validação dessa metodologia para um contexto de média-baixa complexidade laboratorial, sendo uma alternativa de

custo reduzido aos sistemas baseados em sondas TaqMan®, com potencial de implementação em laboratórios do Sistema Único de Saúde (SUS), contribuindo para o rastreamento e controle desta IST.

METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) e do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), sob numeração 0240.0.000.217-08. As coletas só ocorreram após a obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), conforme as diretrizes para pesquisas com seres humanos.

Amostras clínicas

Um total de 98 amostras clínicas (secreção vaginal) foram obtidas durante os exames de rotina no Ambulatório Especializado da Mulher, no Recife, Estado de Pernambuco, Brasil. O tamanho da amostra foi calculado com o software EPI-INFO 3.3.2, utilizando o programa STATCALC, com base em dados de prevalência da literatura.

Foram incluídas no estudo mulheres com idade entre 18 e 49 anos, sexualmente ativas, que apresentavam indicação clínica de rastreio para IST e que concordaram em participar mediante assinatura do TCLE. Gestantes, mulheres que haviam recebido antibioticoterapia nos 30 dias anteriores à coleta, mulheres HIV-positivas, e aquelas que se recusaram a participar ou que apresentavam condições que impossibilitavam a coleta adequada do material foram excluídas da pesquisa.

Para coleta, duas amostras de secreção vaginal de cada paciente foram recolhidas com swabs de algodão, a partir da região do cérvix uterino, transferidas para tubo Falcon estéril de 15 mL, contendo 2 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) e colocadas em caixas térmicas com gelo. Em seguida, foram transportadas para o setor de Biologia Molecular do Instituto Keizo Asami (iLIKA/UFPE).

Extração do DNA

Após a chegada no laboratório, os tubos contendo os swabs foram agitados vigorosamente no vórtex por 10

segundos. Posteriormente, foram centrifugados a 2.500 rpm por 10 minutos, tendo o sobrenadante (porção líquida) descartado e o pellet celular suspenso em 50 µL de água estéril. A extração do DNA foi realizada utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega Corporation), conforme as instruções do fabricante. Efetivado isso, cada amostra foi analisada em um gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio, para verificar a eficiência da extração.

Primers

Oligonucleotídeos específicos foram utilizados para a detecção da *C. trachomatis*: o sense 5'-GGGAGCAACTACCGGTTA-3' e o antisense 5'-GTGTCTGTATAAAGCTCAACC-3'. Um controle negativo da reação foi realizado contendo todos os reagentes, porém, sem a presença de DNA genômico.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A qPCR foi realizada utilizando um Rotor Gene™ RG3000 (Uniscience-Cobert Research, Austrália), que possui quatro diodos emissores de luz para detecção de até quatro alvos em uma única reação de amplificação. Assim, a técnica foi realizada em uma mistura de reação de 15 µL, contendo 2 µL de DNA (50 ng) de uma amostra clínica (secreção vaginal), 7,5 µL de 2 x SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), 1,5 µM de cada primer (10 pmol/µL) e água MilliQ q.s.p. 15µL.

O perfil da reação de amplificação inclui aquecimento a 95 °C por 4 minutos, seguido por 40 ciclos de 95 °C por 1 segundo e 58 °C por 60 segundos. A aquisição de um sinal foi realizada a 58 °C durante cada fase de extensão. Após os ciclos, uma curva de fusão foi gerada pelo aquecimento da amostra a 95 °C programado, seguido pelo resfriamento a 60 °C por 15 segundos e aquecimento lento das amostras a 0,3 °C/s a 95 °C, enquanto a fluorescência é observada na temperatura de desnaturação/fusão de um fragmento de DNA, característica única desse fragmento. Os produtos da PCR específicos com aproximadamente 150 pb foram confirmados em um gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio.

Critérios de resultado positivo para PCR em Tempo Real

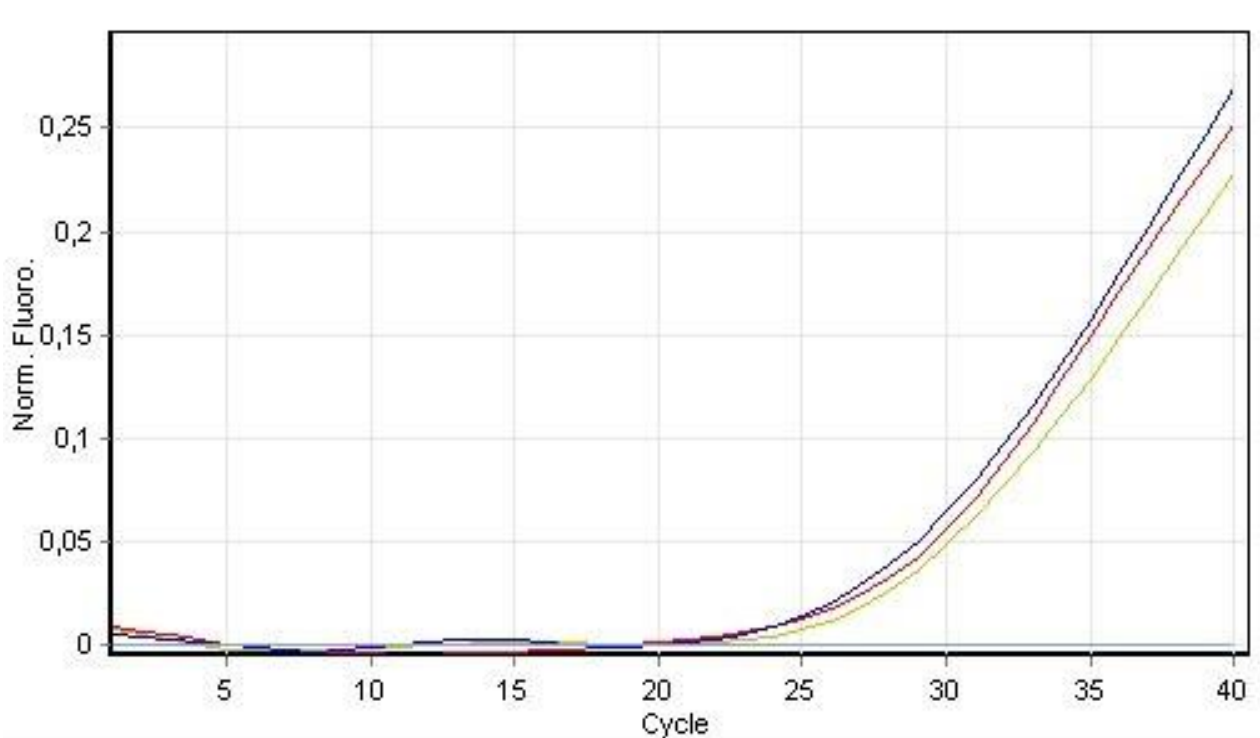
Uma amostra foi considerada positiva para *C. trachomatis* DNA se produziu sinais no canal e o teste, repetidamente, confirmou a descoberta. Caso contrário, foi designado um resultado falso-positivo. Para validação adicional dos resultados positivos obtidos pela qPCR, um subconjunto de amostras foi submetido à análise por DIF. Das amostras identificadas como positivas pela DIF, 100% apresentaram concordância com os resultados da qPCR, corroborando a especificidade do protocolo proposto.

RESULTADOS

Análise de curva para amplificação de DNA

Na Figura 1 é possível observar a geração de curvas de amplificação de material genético específico para *C. trachomatis*. Os valores de threshold (Ct) foram plotados em função do log da quantidade inicial de DNA genômico. Nenhum amplicon foi gerado na amostra controle negativo, mostrando especificidade para a reação (linha basal). No estudo populacional, 14,3% (n=14/98) das amostras foram positivas e 85,7% (n=84/98) negativas para *C. trachomatis* por qPCR.

Figura 1 - Curva de amplificação de *C. trachomatis* para produtos de PCR formados após 15 ciclos de amplificação, indicando a amplificação do DNA alvo nas amostras positivas, enquanto o controle negativo permanece na linha de base, confirmando a especificidade da reação.



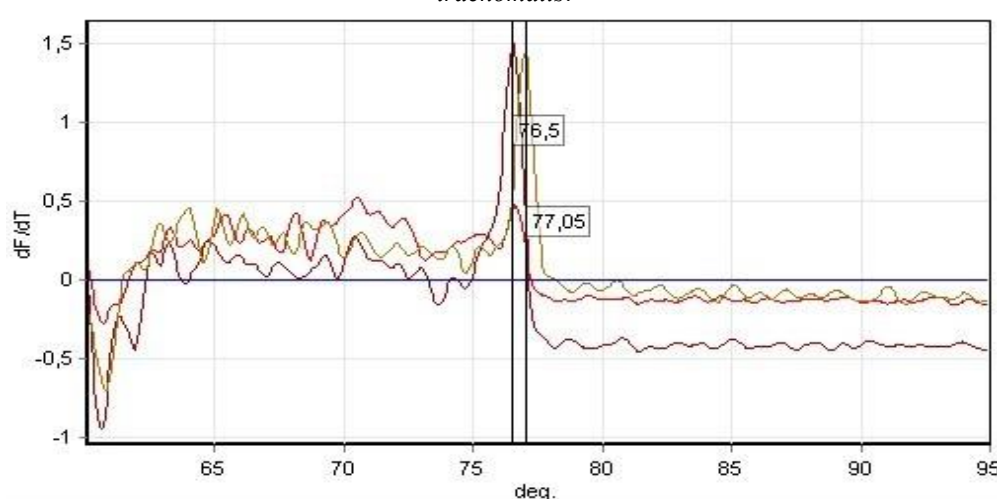
Análise de picos de fusão

Para diferenciar produtos de amplificação indesejados dos desejáveis, picos de fusão foram estabelecidos para cada amostra. Estes, obtidos após amplificação do DNA de $77 \pm 0,5$, estão demonstrados na

Figura 2. O controle negativo não apresentou nenhum pico. Os dados de fluorescência foram adquiridos conforme a amostra foi aquecida a $0,2^\circ\text{C/s}$ de 58°C a 95°C . O gráfico da razão de 2 x SYBR Green Master Mix Real-Time PCR (Applied Biosystem, Foster City, CA, EUA) e fluorescência vs. temperatura ilustra as

propriedades de fusão. Ao traçar a derivada negativa da razão com temperatura vs. temperatura, os dados mostram os picos onde ocorre a fusão máxima (Figura 2).

Figura 2 - Pico de fusão criado por *amplicons*. O pico de fusão em $77 \pm 0,5$ °C indica a presença do *amplicon* específico de *C. trachomatis*.

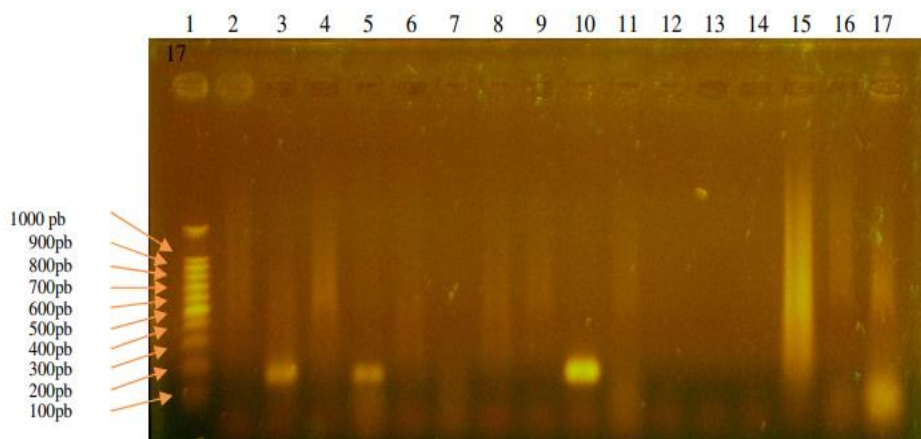


Análises em gel de agarose a 1%

Os produtos de amplificação indesejados gerados por picos de fusão foram confirmados usando eletroforese em gel de agarose a 1%, demonstrando, além de uma

banda de DNA de aproximadamente 150 pb, dímeros de *primers* nos resultados da PCR (Figura 3). As amostras 3, 5 e 10 apresentaram um fragmento específico de DNA de 150 pb, indicando a presença da bactéria e validando os resultados da PCR.

Figura 3 - Análise de amplificação de *C. trachomatis* por eletroforese em gel de agarose a 1%.



Legenda: Linha 1 – Ladder 1000 pb; Linhas 2–17 – produtos de PCR obtidos de diferentes amostras de secreção vaginal. As amostras 3, 5 e 10, apresentam banda específica de aproximadamente 150 pb, indicando resultado positivo para *C. trachomatis*. As demais linhas não exibem banda na altura esperada. Bandas de baixo peso molecular (inferiores a 50 pb) correspondem a dímeros de *primers*, artefatos inerentes a técnica, diferenciados pela análise da curva de *melting*.

DISCUSSÃO

A literatura demonstra que a tecnologia da PCR vem sendo amplamente utilizada nos últimos anos para o diagnóstico de diversos microrganismos, sendo classificada como atual “padrão ouro” para o diagnóstico de *C. trachomatis* (Peng; Chen; Wang, 2020). Muitos estudos relacionados à prevalência do patógeno utilizando-se da PCR, a partir de amostras de raspado cervical ou urina, foram realizados, obtendo resultados satisfatórios para detecção da referida bactéria (Jaton; Bille; Greub, 2006; Piazzetta et al., 2011; Gaydos et al., 2013; Baud et al., 2014).

Comparada a outras técnicas, como o teste rápido baseado no princípio imunocromatográfico para o diagnóstico de *C. trachomatis*, a PCR foi considerada superior: o teste não apresentou sensibilidade em amostras de fluido seminal, mas, para as de urina, demonstrou 37,5% de sensibilidade e 100% de especificidade. Em contrapartida, a qPCR, adotada como método de referência, demonstrou expressivas sensibilidade e especificidade, permitindo a detecção precisa de infecções mesmo em amostras com baixa carga bacteriana (Serafini et al., 2021).

Quando avaliada a eficiência da qPCR na detecção de *C. trachomatis* em amostras de urina, secreção endocervical e secreção uretral, comparando-a ao método COBAS Amplicor® Chlamydia trachomatis Test, os resultados apresentaram sensibilidade de 85% em amostras de urina, 80% em secreção endocervical e 100% em secreção uretral, além de especificidade de 100% em todas as amostras analisadas para a PCR. Embora o COBAS Amplicor® tenha apresentado maior positividade em urina (57% contra 47%) e secreção endocervical (33% contra 24%), a qPCR se destacou pela sua excelente especificidade e pelo valor preditivo positivo de 100% (Poiares et al., 2008).

Portanto, entre as principais vantagens da qPCR estão a possibilidade de análise de amostras de fácil coleta, como urina, eliminando a necessidade de técnicas invasivas, e sua ótima especificidade, sendo ferramenta confiável para o diagnóstico da Clamídia e oferecendo rapidez, precisão e versatilidade. Sendo assim, é viável tanto para diagnósticos clínicos quanto para investigações epidemiológicas. Entretanto, a maioria dos ensaios que utilizam esse método ocorre por sistemas baseados em

sonda fluorescente TaqMan® que, apesar de elevada especificidade e capacidade de multiplexagem, apresenta desvantagens significativas, como o custo elevado e restrição do número de sequências alvo (Santos, 2020).

Em contrapartida, nesta pesquisa, foi empregado um ensaio da qPCR utilizando SYBR Green I como fluorescência, corante que se liga ao DNA de fita dupla, incluindo produtos de PCR específicos e inespecíficos, bem como dímeros de primers (Kuoppa et al., 2002; Reischl et al., 2003). Estes podem ser diferenciados utilizando a técnica de análise de temperatura de fusão, como aplicado na pesquisa. Comparado a TaqMan, o SYBR Green é mais acessível financeiramente e versátil para triagens iniciais ou estudos exploratórios, sendo, portanto, uma alternativa promissora (Gudnason et al., 2007 apud Tao et al., 2022).

No que concerne às limitações inerentes ao SYBR Green I, é necessário reconhecer que o corante não discrimina produtos específicos de inespecíficos durante a fase de amplificação, podendo comprometer a especificidade em protocolos sem etapa confirmatória. Essa dificuldade foi contornada pela análise da curva de melting. Do ponto de vista de aplicabilidade, o protocolo proposto demonstra bom potencial.

A prevalência de *C. trachomatis* encontrada na presente pesquisa foi de 14,3%, valor que se mostra elevado quando comparado a dados nacionais e internacionais da literatura. Em estudo multicêntrico envolvendo 3.303 gestantes de seis capitais brasileiras, Jalil et al. (2008) identificaram prevalência de 9,4%, utilizando captura híbrida em amostras cervicovaginais. Resultados semelhantes foram descritos em uma cidade da região sul do Brasil, com mulheres jovens sexualmente ativas, que encontrou prevalência de 10,7% pela técnica de PCR (Piazzetta et al., 2011).

No contexto internacional, uma meta-análise conduzida por Huai et al. (2020), abrangendo 24 países, estimou prevalência global de 2,9% na população geral, com destaque para a América Latina, que apresentou a maior taxa regional, de 6,7%. A prevalência encontrada neste estudo supera esses parâmetros, sugerindo que a população estudada apresenta perfil de risco expressivo para a infecção. No entanto, algumas limitações devem ser consideradas na interpretação desses dados: o tamanho amostral limita a precisão da estimativa de prevalência, bem como restringe o poder estatístico para identificar

fatores associados, além de comprometer a generalização dos resultados para a população de origem.

A ausência de gestantes na amostra, embora reduza um potencial viés de seleção em relação aos estudos obstétricos, dificulta comparações diretas com muitos dos trabalhos disponíveis, que foram conduzidos predominantemente nessa população. Ademais, variações nos métodos diagnósticos empregados entre os estudos introduzem heterogeneidade que impede comparações absolutas entre as prevalências reportadas.

Contudo, a prevalência encontrada reforça a necessidade de rastreamento sistemático em mulheres atendidas em serviços ambulatoriais de redes públicas e privadas do Nordeste, especialmente considerando a natureza assintomática da infecção e seu potencial de complicações reprodutivas.

CONCLUSÃO

O estudo validou a PCR em Tempo Real (qPCR) com SYBR Green I para diagnóstico de *C. trachomatis*, confirmando sua especificidade e a identificação de uma prevalência de 14,3% de amostras vaginais infectadas. A metodologia mostrou-se eficiente, econômica e adequada para rotinas laboratoriais de diagnóstico e monitoramento do patógeno. Futuros estudos devem expandir sua aplicação para outros tipos de amostras, reforçando seu potencial como ferramenta acessível no rastreamento e controle dessa IST.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Virologia do Instituto Keizo Asami (iLIKA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP).

REFERÊNCIAS

- BARBEE, L. A. *et al.* New human immunodeficiency virus diagnosis independently associated with rectal gonorrhea and Chlamydia in men who have sex with men. **Sex Transm Dis.** v. 44, n. 7, p. 385–9, 2017. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000000614.
- BAUD, D. *et al.* Roles of bovine Waddlia chondrophila and Chlamydia trachomatis in human preterm birth. **New Microbes New Infect.** v. 3, p. 41–45, 2014. DOI: 10.1016/j.nmni.2014.11.004.
- GAYDOS, C. A. *et al.* Performance of the Cepheid CT/NG Xpert Rapid PCR Test for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. **J Clin Microbiol.** v. 51, n. 6, p. 1666–72, 2013. DOI: 10.1128/JCM.03461-12.
- GEISLER, W. M. *et al.* Diagnosis and management of uncomplicated Chlamydia trachomatis infections in adolescents and adults: summary of evidence reviewed for the 2021 centers for disease control and prevention sexually transmitted infections treatment guidelines. **Clin Infect Dis.** v. 74, 2022. DOI: 10.1093/cid/ciac126.
- GUDNASON, H. *et al.* Comparison of multiple DNA dyes for real-time PCR: effects of dye concentration and sequence composition on DNA amplification and melting temperature. **Nucleic Acids Res.**, v. 35, n. 19, 2007. DOI: 10.1093/nar/gkm671.
- HUAI, P. Prevalência da infecção genital por Chlamydia trachomatis na população geral: uma meta-análise. **BMC Doenças Infecciosas**, v. 20, 2020. DOI: 10.1186/s12879-020-05307-w.
- JALIL, E. M. *et al.* Prevalência da infecção por clamídia e gonococo em gestantes de seis cidades brasileiras. **Rev Bras Ginecol Obstet.**, v. 30, n. 12, p. 614–9, 2008.
- JATON, K.; BILLE, J.; GREUB, G. A novel real-time PCR to detect Chlamydia trachomatis in first-void urine or genital swabs. **J. Med. Microbiol.** v. 55, p. 1667–1674, 2006. DOI: 10.1099/jmm.0.46675-0.
- KUMAR, S. *et al.* The Estimated Lifetime Medical Cost of Chlamydia, Gonorrhea, and Trichomoniasis in the United States, 2018. **Sex Transm Dis.** v. 48, n. 4, p. 238–246, 2021. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000001357.

KUOPPA, Y. *et al.* Quantitative detection of respiratory *Chlamydia pneumonia* infection by real-time PCR. **J. Clin. Microbiol.** v. 40, n. 6, p. 2273-2274, 2002. DOI: 10.1128/JCM.40.6.2273-2274.2002.

PENG, L.; CHEN, J. L.; WANG, D. Progress and perspectives in point of care testing for urogenital *Chlamydia trachomatis* infection: A review. **Med. Sci. Monit.** v. 26, 2020. DOI: 10.12659/MSM.920873.

PIAZZETTA, R. C. P. S. *et al.* Prevalência da infecção por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria Gonorrhoea* em mulheres jovens sexualmente ativas em uma cidade do Sul do Brasil. **Rev Bras Ginecol Obstet.** v. 33, n. 11, p. 328-33, 2011. DOI: 10.1590/S0100-72032011001100002.

POIARES, L. A. *et al.* Validação do método de detecção de *Chlamydia trachomatis* por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real. **RBAC**, v. 40, n. 3, p. 229-232, 2008.

REISCHL, U. *et al.* Rapid and standardized detection of *Chlamydia pneumoniae* using LightCycler real-time fluorescence PCR. **J. Clin. Infec. Dis.** v. 22, n. 1, p. 54-57, 2003. DOI: 10.1007/s10096-002-0858-2.

ROWLEY, J. *et al.* *Chlamydia*, *gonorrhoea*, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. **Bull World Health Organ.** v. 97, p. 548-62, 2019. DOI: 10.2471/BLT.18.228486.

SANTOS, B. M. G. **Desenvolvimento de reação em cadeia da polimerase (PCR) multiplex em tempo real com curva de dissociação de alta resolução (HRM) para detecção simultânea e identificação de seis herpesvírus humanos.** 2020. 85 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

SERAFINI, A. *et al.* Comparison of real-time PCR assay with a commercial rapid test based on the immunochromatographic principle for the detection of *Chlamydia trachomatis* in seminal fluid and urine specimens. **Infez Med.** v. 29, n. 4, p. 562-567, 2021. DOI:

10.53854/liim-2904-9.

SHETTY, S. *et al.* Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* genital infections in the era of genomic medicine. **Braz J Microbiol.** v. 52, n. 3, p. 1327-1339, 2021. DOI: 10.1007/s42770-021-00533-z.

STURD, N.; RUCKS, E. A. *Chlamydia trachomatis*. **Cell Press**, v. 31, n. 5, p. 535-536, 2023. DOI: 10.1016/j.tim.2022.11.002.

TAO, Y. *et al.* Comparison of analytical sensitivity and efficiency for SARS-CoV-2 primer sets by TaqMan-based and SYBR Green-based RT-qPCR. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 106, n. 5-6, p. 2207-2218, 2022. DOI: 10.1007/s00253-022-11822-4.

VAUGHAN, A. S. *et al.* An application of propensity score weighting to quantify the causal effect of rectal sexually transmitted infections on incident HIV among men who have sex with men. **BMC Med Res Methodol.** v. 15, 2015. DOI: 10.1186/s12874-015-0017-y.

WHO, World Health Organization. **Report on global sexually transmitted infection surveillance.** Geneva: Who. 2018.

WHO, World Health Organization. **Global Progress Report on HIV, Viral Hepatitis and Sexually Transmitted Infections.** Geneva: WHO. 2021.

WHO, World Health Organization. **Global Health Sector Strategies on, Respectively, HIV, Viral Hepatitis and Sexually Transmitted Infections for the Period 2022-2030.** Geneva: WHO. 2022.

WITKIN, S. S. *et al.* *Chlamydia trachomatis*: the persistent pathogen. **Clin Vaccine Immunol.** v. 24, n. 10, 2017. DOI: 10.1128/CVI.00203-17.

WORKOWSKI, K. A. *et al.* Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. **MMWR Recomm Rep.** v. 70, n. 4, p. 1-187, 2021. DOI: 10.15585/mmwr.rr7004a1.